

ارزیابی نقش دگزامتازون در کاهش درد حاد و مزمن و مقایسه آن با استرس در مدل

تست فرمالین در موش سوری

چکیده

مطالعات اندکی نشان داده‌اند که استرس و گلوکوکورتیکوئیدها در کنترل درد دخالت دارند. هدف این پژوهش بررسی اثر استرس حاد و دگزامتازون (به عنوان یک آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئیدها) بر درد حاد و مزمن (در مدل آزمون فرمالین) در موش سوری بوده است. در این مطالعه، موش‌های نر سوری نژاد آلبینو (۶۰ سر در ۶ گروه ۱۰ تایی) با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. دگزامتازون به میزان ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن یا هم حجم آن حامل به صورت زیر جلدی، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون فرمالین به تمام موش‌ها تزریق شد. برای ایجاد استرس از شنای در آب سرد (۱۸ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱ دقیقه استفاده گردید. حیوانات ۳ دقیقه بعد از ایجاد استرس در گروه دریافت کننده استرس به تنهایی و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق دگزامتازون در گروهی که دگزامتازون و استرس دریافت کرده بودند، با آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفتند. شاخص‌های ارزیابی درد در آزمون فرمالین شامل مدت زمان لیسیدن اندام و بالا نگه داشتن آن‌ها طی مراحل حاد (۵ دقیقه اول) و مزمن (۱۵ تا ۴۰ دقیقه) بعد از تزریق فرمالین (۲۵ میکرولیتر از محلول ۵٪) در کف پای حیوان بود. نتایج نشان داد که در گروه‌های دریافت کننده استرس آب سرد و دگزامتازون (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم)، زمان پاسخ‌دهی حیوانات به محرک‌های دردناک نسبت به درد حاد و مزمن در مدل فوق (آزمون فرمالین) به طور معنی داری کاهش یافته بود ($P < 0/01$). همچنین اثرات استرس به تنهایی نسبت به دگزامتازون بیش‌تر بود ($P < 0/01$). یافته‌های فوق نشان می‌دهد که استرس و فعال شدن گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی سبب کاهش درد حاد و مزمن (افزایش بی‌دردی) به دنبال تزریق فرمالین می‌شوند. پی‌بردن به مکانیسم‌های کاهش درد توسط استرس و گلوکوکورتیکوئیدها نیاز به مطالعات بیش‌تری در این زمینه دارد.

کلیدواژه‌ها: ۱- درد حاد و مزمن ۲- دگزامتازون ۳- آزمون فرمالین ۴- استرس ۵- موش سوری

*دکتر عباسعلی طاهریان I

دکتر عباسعلی وفایی II

دکتر علی رشیدی‌پور III

حسین میلادی گرجی IV

مرتضی جراحی IV

مقدمه

انسان با آن مواجه بوده و همواره در جستجوی راهی برای بررسی علت و دستیابی به روش‌های برطرف نمودن آن بوده است.

درد عامل هشدار دهنده‌ای است که در صورت احتمال یا وجود خطر، خود را به شکل‌های حاد یا مزمن نشان می‌دهد و از شایع‌ترین مشکلاتی است که

این مقاله در پنجمین کنگره بین‌المللی نورواندوکرینولوژی در کشور انگلستان سال ۱۳۸۱ ارائه شده است.

(I) پزشک عمومی، مربی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان (*مؤلف مسئول).

(II) استادیار فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان.

(III) دانشیار فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان.

(IV) کارشناس ارشد فیزیولوژی، مربی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان.

درد مزمن بر خلاف درد حاد که زودگذر است، طولانی مدت بوده و در صورت عدم تسکین موجب رنج بیمار و کاهش آستانه درد می گردد. اطلاعات به دست آمده از مطالعات قبلی گویای آن است که استفاده از مقدار واحد آگونیست دگزامتازون می تواند دردهای بعد از عمل جراحی در نواحی سر و گردن را کاهش دهد بدون آنکه عارضه جانبی داشته باشد. اثرات مفید این دارو نسبت به عوارض جانبی احتمالی آن دارای ارزش بیش تری می باشد (۱).

مطالعات قبلی نشان داده اند که گلوکوکورتیکوئیدها با تغییر دادن سطح پلاسمایی اندورفین ها می توانند موجب کاهش دردهای محیطی شوند (۲). ذکر این نکته لازم است که اثرات ضد درد گلوکوکورتیکوئیدها بر دردهای ناشی از تزریق فرمالین قبلاً بررسی نشده است. بر اساس این مطلب پژوهش حاضر جهت بررسی اثرات ضد درد دگزامتازون (آگونیست گلوکوکورتیکوئید) در مقادیر متفاوت، بر دردهای محیطی حاد و مزمن انجام شد و با اثر استرس به عنوان یک عامل متعادل کننده درد مقایسه گردید.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۶۰ سر موش نر سوری نژاد آلبینو با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. موش ها به صورت گروه های ده تایی در قفس های پلاستیکی و در اتاقی با شرایط محیطی و درجه حرارت حدود 22 ± 2 درجه سانتی گراد و دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در حالی که غذا و آب آزادانه در اختیار داشتند نگهداری می شدند. جهت انجام دادن آزمایش های لازم و برای سازش حیوانات با دستگاه آزمون فرمالین، ۲ روز و هر روز نیم ساعت حیوانات به صورت انفرادی در دستگاه قرار می گرفتند.

- روش ارزیابی درد در آزمون فرمالین: در این آزمون وسیله مورد استفاده برای آزمایش یک چهارپایه آلومینیومی بود که روی آن یک صفحه شیشه ای و روی صفحه شیشه ای، قیف دهان گشادی قرار داده شده بود. در فاصله ای از سطح شیشه ای و سطح افق نیز آیینی با زاویه

۴۵ درجه برای آسان تر شدن مشاهدات وجود داشت. در روز آزمایش، موش ها به طور جداگانه و به منظور تطابق با محیط، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین در زیر قیف شیشه ای قرار می گرفتند سپس در زمان آزمایش، فرمالین با مقدار ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر جلدی، به کف پای راست و عقبی موش سوری تزریق می شد (۳). زمان کل (بر حسب ثانیه) که برای لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده صرف شده بود، در فواصل زمانی ۵ دقیقه اول برای درد حاد و ۱۵ تا ۴۰ دقیقه بعد به عنوان شاخص درد مزمن اندازه گیری می گردید. بعد از ۵ دقیقه اول، در فاصله ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین حیوان رفتار خاصی از خود نشان نمی دهد. بعد از ۱۵ تا ۲۰ دقیقه فاز دوم درد شروع می شود و حیوان دوباره به لیسیدن کف پای مربوطه می پردازد که حدود ۴۰ دقیقه طول می کشد.

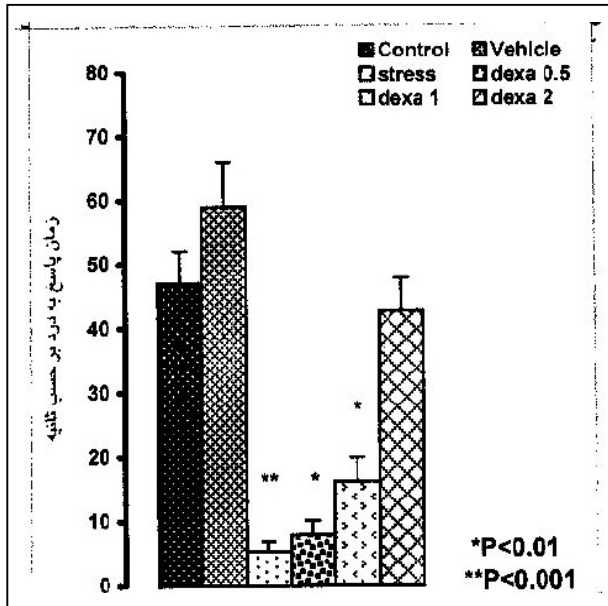
- روش ایجاد استرس: برای ایجاد استرس از ۱ دقیقه شنا در آب سرد (۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی گراد) استفاده شد. برای این منظور حیوان به مدت ۱ دقیقه در ظرف آبی که قبلاً آماده شده بود قرار می گرفت و به مدت ۶۰ ثانیه شنا می کرد سپس به قفسی منتقل می شد که در کف آن حوله و در بالای آن یک لامپ ۱۰۰ وات روشن برای خشک شدن حیوان وجود داشت. پس از خشک شدن حیوان (حدود ۲ دقیقه) آزمون شروع می شد.

- سازش یافتن: تمام گروه های آزمایشی از ۲ روز قبل و هر روز به مدت ۳۰ دقیقه به دستگاه عادت داده شدند.

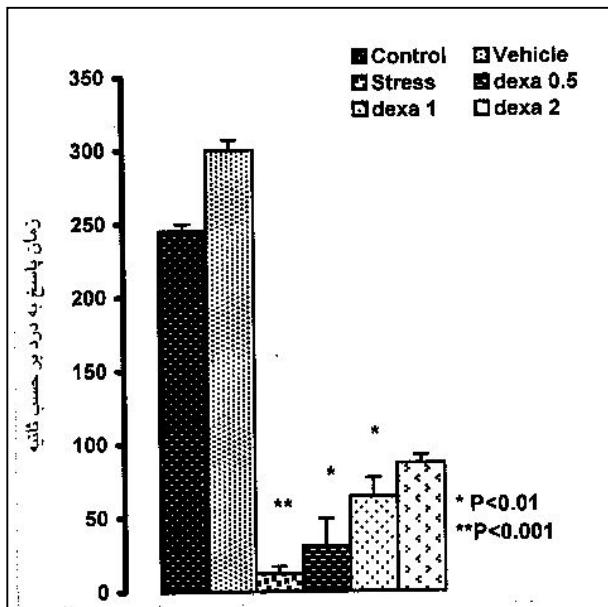
در روز آزمایش نیز نیم ساعت پس از آن که حیوانات به دستگاه عادت کردند ابتدا دگزامتازون سپس فرمالین در زمان مشخص شده تزریق شد.

- آماده سازی داروها: در این پژوهش از دگزامتازون به عنوان آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئید استفاده گردید به طوری که در ابتدا در اتانول ۱۰۰٪ حل شد سپس محلول به دست آمده به تدریج با سالین رقیق گردید تا درصد اتانول به ۲٪ کاهش یابد. در گروه شاهد، حجم مساوی از Vehicle یا حامل (اتانول ۲٪ و سالین) به صورت زیرجلدی تزریق می شد. فرمالین ۵٪ از محتوی فرمالین ۳۷٪

داده بود ($P < 0.01$). مقایسه اثر دگزامتازون و استرس بر کاهش درد نشان داد که اثر استرس به تنهایی به طور معنی داری از دگزامتازون بیش تر می باشد ($P < 0.01$) (نمودار شماره ۱ و ۲).



نمودار شماره ۱- اثرات ضد درد (درد حاد) تزریق دگزامتازون با مقادیر ۰/۵ و ۱ میلی گرم، در مدل ارزیابی درد فرمالین و مقایسه آن با گروه های دریافت کننده حامل، استرس و شاهد در موش سوری



نمودار شماره ۲- اثرات ضد درد (درد مزمن) تزریق دگزامتازون با مقادیر ۰/۵ و ۱ میلی گرم، در مدل ارزیابی درد فرمالین و مقایسه آن با گروه های دریافت کننده حامل، استرس و شاهد در موش سوری

استاندارد و با رقیق کردن آن توسط آب مقطر تهیه و در تمام گروه ها به صورت زیر جلدی در کف پای راست حیوان تزریق می شد. در این بررسی از ۶ گروه ده تایی موش سوری استفاده شد که عبارت بودند از:

گروه های ۱ تا ۳: در این گروه ها دگزامتازون با مقادیر ۰/۵ و ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش به صورت زیر جلدی و ۳۰ دقیقه قبل از آزمون فرمالین تزریق شد (۳). گروه ۴: گروه شاهد که ۳۰ دقیقه قبل از آزمون فرمالین، هم حجم دگزامتازون، حامل زیر جلدی دریافت کردند. گروه ۵: گروهی که قبل از آزمون فرمالین، استرس شنای آب سرد به مدت ۱ دقیقه دریافت کردند. گروه ۶: گروه شاهد که قبل از آزمون فرمالین هیچ گونه استرس یا دارویی دریافت نکردند.

داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین ارائه شد و برای بررسی تفاوت آماری بین ۲ گروه مستقل از آزمون T-test و در مواردی که بیش از ۲ گروه مستقل وجود داشت از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید. از آن جا که با در نظر گرفتن مقدار F به دست آمده پاسخ معنی دار بود، تست توکی انجام شد. پس از به دست آوردن اطلاعات از گروه های آزمایشی مختلف، نتایج گروه های فوق تجزیه و تحلیل و $P < 0.05$ به عنوان شاخص معنی دار بودن مطرح گردید.

نتایج

نتایج به دست آمده نشان دهنده آن بود که تزریق دگزامتازون با مقادیر ۰/۵ و ۱ به صورت زیر جلدی نیم ساعت قبل از تزریق فرمالین در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری زمان واکنش به درد حاد و مزمن را کاهش می دهد ($P < 0.01$). در حالی که تزریق دگزامتازون با مقدار ۲ میلی گرم اثر معنی داری نداشت ($P > 0.05$). همچنین ایجاد استرس شنای آب سرد قبل از انجام آزمون فرمالین در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری زمان واکنش به درد حاد و مزمن را کاهش

بحث

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که دگزامتازون با افزایش غلظت بتا اندورفین‌های پلازما به تعدیل آستانه درد محیطی کمک می‌کند. هم چنین این افزایش موجب تغییر سطح و آزاد شدن بتا اندورفین‌های هیپوفیزی می‌شود (۴) که از این طریق نیز می‌تواند در کنترل درد به طور مرکزی دخالت داشته باشد. از سوی دیگر دیده شده است که دردهای سوماتیک و آستانه درد در بیماران مبتلا به انسداد عروق کرونر توسط فاکتورهای فیزیولوژیک و عوامل فارماکولوژیک مانند دگزامتازون تعدیل می‌شوند (۵). بر اساس این نتایج مکانیسم‌های عصبی متعددی در سطح انتهای اعصاب محیطی، طناب نخاعی، تنه مغزی - تالاموس و هیپوتالاموس و قشر مغز وجود دارند که در این امر دخالت دارند (۴). هم چنین تغییرات سطح پپتیدهای اپیویدی گردش خون در بخش اندورفین‌ها احتمالاً هر دو راه احشایی و سوماتیک و اعصاب محیطی و مرکزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و از این طریق موجب تغییر شدت درد می‌شود. شواهد قبلی نشان می‌دهند که اثرات ضد درد سیستم اپیویدی ناشی از تداخل با سیستم‌های دیگر از جمله گلوکوکورتیکویدی اعمال می‌گردد بنابراین احتمال آن مطرح است که بین سیستم‌های مهاری درد و کورتیکواستروئیدها اثر متقابل وجود داشته باشد.

در مطالعه دیگری نتایج نشان دادند که استفاده سیستمیک از یک کورتیکواستروئید قوی مانند دگزامتازون اثرات ضد درد ایجاد شده توسط آگونیست انتخابی گیرنده مو (μ) را تعدیل می‌کند بنابراین به احتمال قوی در مغز یک اثر مهم تداخلی بین کورتیکواستروئیدها و سیستم اپیویدی حداقل در سطح گیرنده‌های مو، وجود دارد و تزریق داخل بطنی دگزامتازون موجب تعدیل اثرات ضد درد مورفین می‌گردد. این مطلب تأیید کننده آن است که این اثرات از طریق تداخل بین دگزامتازون یا آنتاگونیست آن با گیرنده اپیویدی و در یک منطقه مرکزی صورت می‌گیرد (۶).

در مطالعات دیگری دیده شد که استفاده از دگزامتازون به شکل پیش درمانی یا قبل از تست‌های ارزیابی درد در موش سوری اثرات ضد درد وابسته به کلونیدین را تعدیل می‌کند (۷) و در تحقیق دیگری استفاده از دگزامتازون داخل صفاقی با مقدار ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در موش سوری ۳۰ تا ۶۰ دقیقه قبل از استفاده از کلونیدین اثرات ضد درد کلونیدین را در Hot plate و Tail flick کاهش داده و منجر به کاهش کم تحرکی حیوان در داخل قفس به دنبال مصرف کلونیدین شده بود (۸). در تحقیقی دیگر که توسط Tarayer و همکارانش روی رات انجام شد، استفاده از دگزامتازون به صورت انفوزیون با پمپ زیر جلدی به مدت ۳ تا ۴ هفته موجب قطع علائم بیماری آرتریت شده بود (۹).

در مطالعه Saika و همکارانش که روی بیماران مبتلا به سرطان پروستات انجام شده بود، مشاهده گردید که درمان با دگزامتازون سطح آنتی ژن اختصاصی پروستات را کاهش داده و منجر به اصلاح علائم بیماران از جمله درد در مرحله D ۲ سرطان می‌شود (۱۰). هم چنین نتایج آزمایش‌های قبلی نشان داده‌اند که تزریق دگزامتازون با مقدار ۱۰ میلی‌گرم به صورت داخل وریدی در انسان بعد از بیهوشی، شیوع استفراغ بعد از عمل جراحی را از ۶۳٪ به ۲۰٪ کاهش می‌دهد (۱۱).

تزریق اپی‌دورال دگزامتازون نیز موجب کاهش تهوع و استفراغ بعد از عمل جراحی سزارین می‌گردد (۱۲). به نظر می‌رسد که اثرات فوق از یک سو ناشی از اثرات دگزامتازون روی ساخته شدن پروتئین از طریق گیرنده‌های گلوکوکورتیکویدی در مغز و از سوی دیگر ناشی از تداخل بین گلوکوکورتیکوئیدها و سیستم گابانرژیک باشد (۵) هم چنین دیده شد که دگزامتازون موجب افزایش فعالیت آنزیماتیک پروستاگلاندین نوع لیپوکایین در سلول‌های مغزی می‌شود و احتمالاً از این طریق می‌تواند اثرات تعدیل کننده روی درد داشته باشد (۱۳).

به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی و با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت دگزامتازون با مقادیر ۱ و ۲

7- Capasso A., Di Giannuario A., Loizzo A., Pieretti S., Sorrentino L. Central interaction of dexamethasone and RU-38486 on morphine antinociception in mice. *Life sci*, 1992, 51: 139-43.

8- Colpaert FC; Tarayre JP; Alliaga M; Bruins Slot LA; Attal N; Koek W. Opiate self-administration as a measure of chronic nociceptive pain in arthritic rats, *Pain*, 2001 Mar; 91(1-2): 33-45.

9- Saika T; Kusaka N; Tsushima T; Yamato T; Ohashi T; Suyama B; et al. Treatment of androgen-independent prostate cancer with dexamethasone: a prospective study in stage D2 patients. *Int J Urol*, 2001 Jun; 8(6): 290-4.

10- Zhukov DA; Vinogradova EP. Agonistic behavior during stress prevents the development of learned helplessness in rats, *Neurosci-Behav-Physiol*, 1998 Mar-Apr; 28(2): 206-10.

11- Wang JJ; Ho ST; Wong CS; Tzeng JJ; Liu HS; Ger LP. Dexamethasone prophylaxis of nausea and vomiting after epidural morphine for post-Cesarean analgesia, *Can-J-Anaesth*, 2001 Feb; 48(2): 185-90.

12- Garcia-Fernandez LF, Iniguaz MA., Eguchi N., Fresno M., Urade Y., Munoz A. Dexamethasone induced lipocain-type prostaglandin D synthase gene expression in mouse neural cells, *J Neurochem*, 2000, 75: 460-70.

13- Sapolsky RM; Meaney MJ; Wen MCE. The development of the glucocorticoid receptor system in the rat limbic brain 3 Negative-feedback regulation, *brain Res*, 1985, 350: 169-173.

میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش توانست دردهای حاد و با مقادیر ۰/۵ و ۱ میلی گرم دردهای مزمن را کاهش دهد. از سوی دیگر استرس اثرات قوی تری نسبت به دگزامتازون به تنهایی روی دوره های درد دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام همکاران عزیز در بخش فیزیولوژی به خصوص آقای حسینعلی صفاخواه، حسن صادقی و محمد رجبی که در این تحقیق همکاری بی شائبه ای داشتند تشکر و قدردانی به عمل می آید.

منابع

1- Jarmukli NF. Effect of raised plasma endorphin concentrations on peripheral pain and angina thresholds in patients with stable angina, *Heart*, London, 1999, 82(2): 204-212.

2- Kanaan SA., Safieh-Garabedian B. Effect of various analgesic and anti-inflammatory drugs on endotoxin-induced hyperalgesia in rats and mice, *Pharmacology*, 1998, 54: 285-97.

3- Capasso A., Central interaction of Dexamethasone and RU38486 on morphine antinociception in mice, *Life Sci*, 1992, 14: 139-43.

4- Williams L. Effect of Steroids on post tonsillectomy pain in adults, *archives of OHNS*, Chicago, 1999, 125: 1361-5.

5- Capasso A., Loizzo A., Clonidine - induced antinociception and locomotor hypoactivity are reduced by dexamethasone in mice, *J pharm pharmacol*, 2001, 53 : 351-60.

6- Pieretti S., Di Giannuario A., Domenici MR., Sagratella S., Capasso A., Sorrentino L., et al. Dexamethasone-induced selective inhibition of the central mu opioid receptor functional in vivo and in vitro evidence in rodents, *Br J pharmacol*, 1994, 113: 1416-22.

Assessment of the Role of Dexamethasone on Modulation of Acute and Chronic Pain and its Comparison with Stress Analgesic Effect in Formalin Test in Mice

^I
***A. A. Taherian, MD** ^{II}
A. A. Vafaei, Ph.D. ^{III}
A. Rashidi Pour, Ph.D.
^{IV} ^{IV}
H. Miladi Gorji, MSc **M. Jarrahi, MSc**

Abstract

A few studies have shown that stress and glucocorticoids probably interfere in pain control. The aim of this study was to investigate the role of dexamethasone (Dex) as a glucocorticoid receptor agonist on acute and chronic pain in formalin test in mice. In this study male albino mice ($n=60$) in 6 groups (25-30gr) were used. Dex (0.5, 1 and 2mg/kg) was injected 30 min before test and stress (St) was caused by 1-min swimming in cold water (18-22°). Also, formalin test was performed 3 min after inducing St in St groups and 30 min after injection of Dex in Dex+St groups. Indices of signs were licking and foot elevation for assessment of acute pain (5 min) and chronic pain (15-40 min) after injection of formalin 5% (25 μ l) in right paw. Findings indicated that Dex had analgesia effect in duration of acute and chronic phases compared with control group and St was more effective than Dex effect. The present data provide further evidence for important role of glucocorticoids on relief of acute and chronic pain ($P<0.01$). Also, the effect of St was higher than Dex. The present data show that St and Dex receptors induce acute and chronic pain in formalin test. More investigation is needed to find antinociception effects of St and Dex.

Key Words: 1) Acute and chronic Pain 2) Dexamethasone
3) Formalin test 4) Stress 5) Mice

This article has been presented in the 5th Congress of Neuroendocrinology in England in 2002.

I) General Practitioner. Instructor of School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences and Health Services (*Corresponding Author).

II) Assistant Professor of Physiology. Semnan University of Medical Sciences and Health Services, Semnan, Iran.

III) Associate Professor of Physiology. Semnan University of Medical Sciences and Health Services, Semnan, Iran.

IV) MSc in Physiology. Instructor of School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences and Health Services, Semnan, Iran.